中国生态农业学报 2016 年 3 月 第 24 卷 第 3 期
Chinese Journal of Eco-Agriculture, Mar. 2016, 24(3): 365−372

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.150931

铅胁迫下小花南芥与玉米间作对根系分泌物有机酸的影响*

王吉秀 湛方栋 李 元 祖艳群** 秦 丽 何永美 李明锐

(云南农业大学资源与环境学院 昆明 650201)

摘 要 为了揭示 Pb 胁迫对间作和单作的超累积植物和作物根系分泌低分子有机酸的影响, 研究设置 400 mg·L^{-1} Pb 胁迫, 采用水培曝气法试验, 以玉米和小花南芥单作为对照处理, 研究 Pb 胁迫下玉米和小花南芥间作对植物根系形态、根系分泌有机酸及 Pb 吸收的影响。结果表明: 与单作相比, 间作小花南芥情况下, 玉米根系分泌物检测到乳酸; 玉米分根条数、根表面积和根密度与单作相比分别增加 60%、15%和 42%, 地下部和地上部干重生物量分别增加 108% 和 75%, 玉米地下部 Pb 含量下降 44%; 与单作相比, 间作玉米条件下, 小花南芥根系分泌物检测到乙酸和乳酸, 小花南芥根系分泌物量与单作相比增加 103%~1 700%, 小花南芥地下部和地上部 Pb 累积量分别比单作增加 49%和 75%, 转运系数增加 22%。相关分析结果表明, 单作小花南芥只有地上部 Pb 累积量与草酸显著相关, 而间作小花南芥地下部和地上部 Pb 累积量与草酸、柠檬酸和苹果酸显著相关。研究表明超富集植物小花南芥与玉米间作体系, 根系分泌的有机酸改变了 Pb 在小花南芥和玉米体内的累积特征, 促进超累积植物小花南芥累积 Pb, 减少农作物玉米植株体内 Pb 含量。Pb 胁迫下超累积植物小花南芥与玉米间作是一种可行的修复模式。

关键词 铅胁迫 小花南芥 玉米 间作 根系分泌物 有机酸
中图分类号: X53 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2016)03-0365-08

Effects of *Arabisalpina* L. var. *parviflora* Franch and *Zea mays* L. intercropping system on root-exudated organic acids under lead stress*

WANG Jixiu, ZHAN Fangdong, LI Yuan, ZU Yanqun**, QIN Li, HE Yongmei, LI Mingrui

(College of Resources and the Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract Cultivated soils contamination by heavy metals have become increasingly contentious to decision makers, farmers, consumers and health professionals around the globe. Phytoremediation is a key strategy for decontaminating cultivated soils polluted by heavy metals. Hyperaccumulator plants are limited by their soil occupation rather than agricultural production in China. Intercropping system of hyperaccumulator plants and crops have been recommended for both of remediation and production in the same time. The accumulation of heavy metal in plants is due to root growth and root exudates. However, plant root morphology and exudates vary, which is a key issue in intercropping systems. In order to investigate the effects of lead (Pb) stress on the exudates of organic acids by hyperaccumulator plant and crop roots in intercropping and monocropping systems, a hydroponic aeration experiment was conducted in a greenhouse. A crop (maize) or hyperaccumulator (*Arabisalpina* L. var. *parviflora* Franch) monocropping and intercropping systems were set up as the control and treatment plots, respectively. The effects of 400 mg·L^{-1} Pb stress on root morphology, organic acids (oxalic acid, tartaric acid, citric acid, malic acid, lactic

* 国家自然科学基金−云南联合基金项目(U1202236)、国家自然科学基金项目(41461093)和云南省教育厅基金项目(2015Y192)资助
** 通讯作者: 祖艳群, 主要从事土壤重金属污染的植物修复研究。E-mail: zuyanqun@ynau.edu.cn
王吉秀, 主要从事土壤重金属污染和环境生态学研究。E-mail: hdkwjx1208925@aliyun.com
收稿日期: 2015−08−24 接受日期: 2015−12−17
* Funded by the National Natural Science Foundation of China (No. U1202236, 41461093) and the Program of Education Department of Yunnan Province (2015Y192)
** Corresponding author, E-mail: zuyanqun@ynau.edu.cn
Received Aug. 24, 2015; accepted Dec. 17, 2015

acid and acetic acid) exudation and lead accumulation in the intercropping and monocropping systems were determined. The results showed that compared with monocropped maize, lactic acid was obtained from intercropped maize root exudates. The numbers of split root, root surface area and root density of intercropped maize increased by 60%, 15% and 42%, respectively. Root and shoot biomass under intercropped maize increased by 108% and 75%, respectively, whereas root Pb content of intercropped maize decreased by 44%. Compared with monocropped *A. alpina*, acetic acid and lactic acid determined from root exudates of intercropped *A. alpine*, showing 103%–1 700% increase in root exudates amount. Also Pb accumulation in underground and aboveground plant parts of intercropped *A. alpina* increased respectively by 49% and 75% with 22% increase in transfer coefficient of Pb. Furthermore, for monocropped *A. alpine*, Pb content in shoots was only significantly positively correlated with oxalic acid content; but for intercropped *A. alpine*, it was significantly positive correlated with contents of oxalic acid, oxalic acid and malic acid both in shoot and root of *A. alpine*. The results suggested that root exudation of organic acids was critical in changing Pb accumulation characteristics in maize and *A. alpina* intercropping system. The number and components of organic acids in root exudates changed under intercropping system, which affected Pb content and accumulation characteristics of *A. alpine* and maize. Pb content increased in *A. alpine* and decreased in maize. In short, hyperaccumulator *A. alpine* and maize were recommended for remediation of cultivated soil contaminated with Pb.

Keywords Lead stress; *Arabisalpina* L. var. *parviflora* Franch; *Zea mays* L.; Intercropping; Root exudate; Organic acid

根是植物从环境中摄取养分和水分的主要器官，它受到环境中的有益元素和有毒元素的影响[1]，同时根系又向环境中溢泌质子和离子并释放大量的有机物质。植物根与土壤界面相互作用，相互影响，植物根系在生长过程中，演化出多种适应污染胁迫的表现形态[2–3]。因此，植物根际微生态环境随着土壤环境污染日益严重而倍受关注，特别是受重金属污染土壤的植物修复[4]。重金属胁迫下根系分泌的低分子量有机酸，通过改变根际环境的 pH、Eh 等物理化学性质来影响重金属形态、迁移和植物体内累积的特征，根系分泌物有机酸对与它间作的植物具有促进和阻滞作用[5]。目前，关于根系分泌物对重金属的影响逐渐成为研究的热点问题。

根系分泌物中低分子量有机酸与重金属之间的关系已有报道。0.5 mg·L^{-1} 和 5 mg·L^{-1} Cd 浓度水培和砂培处理小麦(*Triticum aestivum* L.)根系分泌物中分别检测出柠檬酸和草酸[3]；黑麦草(*Lolium perenne* L.)根系分泌有机酸种类随着 Pb 处理浓度升高而增加，0~400 mg·L^{-1} Pb 处理时分泌的是草酸、酒石酸和苹果酸，600~1 000 mg·L^{-1} Pb 处理下除了前面 3 种酸，还有冰乙酸和柠檬酸[4–5]；Al 诱导黑麦根系分泌柠檬酸和苹果酸[6–7]。不同 pH 营养液外源添加有机酸培养小麦，pH 4.0 时，酒石酸增加小麦地上部分 Cd 的累积，苹果酸降低其地上部分 Cd 的累积[3,8]；1~3 mmol·L^{-1} 的丙二酸、酒石酸增加黑麦草地上部分 Pb 浓度，冰乙酸则增加根部 Pb 浓度[4]；不同 Cd 积累型苋菜(*Amaranthus mangostanus* L.)根际分泌低分子量有机酸总量的增加与植物体内吸收 Cd 呈现正相关[9]。根系分泌物在超累积植物抵御和耐受重金属方面研究也有不同的结果，海州香薷(*Elsholtzia haichouensis* Sun)和鸭跖草(*Commelina communis* L.)根分泌物对污染土壤中 Cu 有一定的活化能力，且鸭跖草根系分泌物对 Cu 的活化能力大于海州香薷[10]。而对两种生态型东南景天(*Sedum alfredii* H.)根系分泌物研究发现，Zn 的累积与根系分泌物种类和数量差异不显著[11]。前期的研究表明，不同植物种类间作，其根分泌物组分和数量明显不同[12]。植物间亲缘关系越远，根系分泌物组分和数量差异越大，根系分泌物的种类和数量还随外界环境胁迫(重金属种类、重金属浓度)不同而改变。

目前，重金属胁迫、单作或作物与作物间作模式对植物生长、累积重金属含量、根系分泌低分子有机酸的影响已有报道。如 Cd 胁迫下龙葵(*Solanum nigrum* L.)与芦荟(*Aloe vera* L.)间作，减缓 Cd 对芦荟的毒害[13]；As 胁迫下，三七[*Panax Notoginseng* (Burk.) F. H. Chen]根系分泌柠檬酸和总有机酸随 As 处理浓度增加而增加[14]；小麦与蚕豆间作，两种植物根系分泌有机酸种类和数量较单作都增加[12]。前人研究都是单独分析重金属胁迫的影响，对于超富集植物与作物间作下，根系分泌有机酸与重金属含量的报道仍然很少。富集植物和作物间作根系分泌物是否在超积累植物根系吸收重金属离子的过程中担负重要作用值得深入探讨。本文设置超累积植物小花南芥(*Arabis alpina* L. var. *parviflora* Franch)、玉米(*Zea mays* L.)单作为对照、小花南芥与玉米间作处理模式，研究超累积植物与玉米间作模式下 Pb 胁迫(400 mg·L^{-1})对两种植物根系形态分布、生物量、根系分泌有机酸的影响，旨在从农作物与超累积植物

间作模式角度，探讨小花南芥与玉米间作模式下根系分泌有机酸与铅含量之间的关系。

1　材料与方法

1.1　试验材料

供试植物小花南芥为十字花科南芥属植物，一年生草本，矿区小花南芥地上部分 Pb 含量可高达 1 711.8 mg·kg^{-1}，地下部分 Pb 含量 1 963.2 mg·kg^{-1}，属于 Pb 超富集植物[15]。

小花南芥种子采于云南省会泽县铅锌矿废弃地，带回实验室保存备用。会泽县铅锌矿位于云南省东北部的曲靖地区，属乌蒙山系。海拔2 463~2 516 m，103°03′~103°55′E, 25°48′~28°38′N，矿区面积5 km^2。铅锌矿储量1 528万t，居云南第2位，含Pb品位28 g·kg^{-1}，含Zn品位77 g·kg^{-1}。

采用种子培养，挑选大小一致且籽粒饱满的小花南芥当年种子，种子用10%安替福民20倍液，浸种20 min，蒸馏水清洗后，用镊子移入漂盘中，每穴一至两粒繁育幼苗，繁育幼苗期间进行常规浇水、光照等管理，培养的控制条件为16 h∶8 h (L∶D)，(20±1) ℃，70% RH，出苗长至5片真叶后进行移栽。

供试玉米品种为‘会单 4 号’。挑选大小一致且籽粒饱满的种子，用 10%双氧水表面消毒 10 min，蒸馏水清洗后，播种在苗床上，出苗长至 2 片真叶后进行移栽。

1.2　试验方法

在云南农业大学农科专业基础实验教学中心土壤肥料实验室进行盆栽试验，试验水培用盆为 30 cm×44 cm×24.3 cm 的白色塑料箱。培养液采用改良霍格兰 Hoagland’s 配方，营养液体积为 30 L，每 3 d 更换一次营养液，营养液 pH 为 6.0(用 0.1 mol·L^{-1} NaOH 和 HCl 调控 pH)。设 3 种种植模式，分别为玉米单作、小花南芥单作、玉米与小花南芥间作。移栽幼苗进行小花南芥与玉米单作和间作，株距和行距都为 10 cm，按 1∶1 小花南芥与玉米的模式进行间作。单作每盆移栽 12 株植物，间作每盆小花南芥和玉米各 6 株。24 h 连续曝气，每种模式做 4 组重复，采用完全随机排列，共计 12 盆。光照时间为 6 h (移到室外进行自然光照)。移栽 20 d 后加入 Pb 胁迫，Pb 胁迫参照乔冬梅等[5]的试验浓度，用分析纯试剂 $Pb(NO_3)_2$ 配制浓度为 400 mg(Pb)·L^{-1}，Pb 胁迫后营养液不更换，消耗多少补充多少进去，连续培养 10 d 后，收集根系分泌液。

1.3　根系形态测定

Pb 胁迫处理 10 d 后，将植株从营养液中取出后用自来水冲洗干净，把玉米和小花南芥地下部和地上部分开，地下部根系逐株用 EPSON PERFECTIONV 700 扫描仪对根系扫描，将图片用根分析软件 WinRHIZO-Pro 2013(Regent Instruments Inc.)对根系参数进行分析。依据 Costa 等[16]的方法统计小花南芥的根长、根表面积、根密度和侧根数。

1.4　根系分泌物的收集和测定

将水培容器里含 Pb 的营养液全部取出后加入去离子水曝气培养 12 h，然后用去离子水冲洗根系 3 遍；取出的植物放入盛有 500 mL 去离子水的烧杯中，自然光照下曝气收集 12 h，收集烧杯中的溶液。收集的所有溶液慢速过滤(0.45 μm 的微孔滤膜)[13−14]。将过滤后的全部液体用旋转蒸发仪(60 ℃)浓缩至 10 mL 左右，贮于−20 ℃以下，待分析低分子量有机酸。分别收集植株茎叶和根，用烘箱在 105 ℃下杀青 30 min，然后 70 ℃恒温烘 24 h 以上，直至恒重后测定其生物量。植株研磨过 0.149 mm 尼龙筛，贮备以测定重金属 Pb 含量。

采用液相色谱仪进行低分子量有机酸测定。测试条件如下：Agilent 1100 高效液相色谱仪，IonpacAS11-HC 分离柱和 IonpacAS11-HC 保护柱，ASRS-11 阴离子微膜抑制器，电导检测器，CQ250 型脱气装置，色谱柱采用 Agilent Zorbax SB-C18, 4.6 mm×250 mm, 5 μm，洗脱液采用 2%甲醇, 98%水(含 0.4%磷酸等洗脱)，色谱柱温 30 ℃，淋洗液流速 0.6 mL·min^{-1}，进样量 15 μL，波长 210 nm，电导检测灵敏度为 1 μs。测定的有机酸包括草酸、酒石酸、柠檬酸、苹果酸、乳酸、乙酸。

标准溶液的配制：标准品购于阿拉丁(Aladdin Chemistry Co. Ltd)，纯度 100%，准确称取草酸、酒石酸、柠檬酸、苹果酸、乳酸、乙酸分别为 7.04 mg、7.07 mg、2.06 mg、2.73 mg、8.47 mg 和 15.10 mg 溶于 10 mL 的容量瓶中，加甲醇溶解定容，得到标准品原液。将标准品原液依次用甲醇稀释 10 倍、20 倍、50 倍、100 倍、200 倍，准确吸取 5 个不同浓度的标准品稀释液各 15 μL 注入高效液相色谱仪，用外标法建立标准曲线。

重金属 Pb 含量测定：用 HNO_3-$HClO_4$ 消解植株样品，冷却后过滤，用原子吸收分光光度法(北京，普析通用 TAS-990 原子吸收分光光度计)测定 Pb 的含量。

1.5　数据统计分析

本文结果为4次重复的平均值，数据统计采用 Microsoft Excel 2000软件进行统计分析，差异显著性分析采用Duncan’s新复极差法多重比较(DPS软

件), $P<0.05$为显著水平。

2 结果与分析

2.1 Pb 胁迫下间作对小花南芥与玉米根系形态的影响

与单作相比，间作体系下小花南芥和玉米根系形态显著发生改变。与单作相比，间作玉米分根条数、根表面积和根密度分别增加 59.83%、14.85%和 42.11%；间作小花南芥根长、分根条数、根表面积和根密度分别增加 25.68%、103.89%、46.85%和 78.26%。Pb 胁迫下间作体系显著改变两种植物根系形态结构(表 1)。

表 1 Pb 胁迫下单作和间作小花南芥及玉米根系形态

Table 1 Effect of Pb stress on roots morphology of intercropped and monocropped *Arbais alpine* and maize

植物 Plant	栽培模式 Planting pattern	根长 Root length (cm)	单株根数 Root number per plant	根表面积 Root surface area (cm^2)	根密度 Root density ($cm\cdot cm^{-3}$)
玉米 *Zea mays*	单作 Monocropping	40.3±1.9a	58.3±12.1b	125.6±6.8b	0.38±0.06b
	间作 Intercropping	38.7±3.6a	93.2±7.0a	144.3±8.6a	0.54±0.07a
小花南芥 *Arbis alpina*	单作 Monocropping	14.8±2.1b	6.7±1.52b	52.2±8.5b	0.23±0.09b
	间作 Intercropping	18.6±1.12a	13.6±4.0a	76.6±7.5a	0.41±0.10a

表中数值为平均值±标准偏差，同列同种植物不同字母表示单作与间作处理差异显著($P<0.05$)，下同。Data in the table are means ± SD. Means in the column affixed with different lowercase letters are significantly different between monocropping and intercropping for the same plant ($P < 0.05$). The same below.

2.2 Pb 胁迫下间作对小花南芥与玉米植株生物量的影响

小花南芥与玉米植株生物量分为地下部分和地上部分，间作玉米地上部干重与单作相比显著增加 75%，间作玉米地下部干重与单作相比显著增加 108%(图 1A)，间作小花南芥地上部干重与单作差异不显著。间作小花南芥地下部干重差异显著，与单作相比增加 75%(图 1B)。

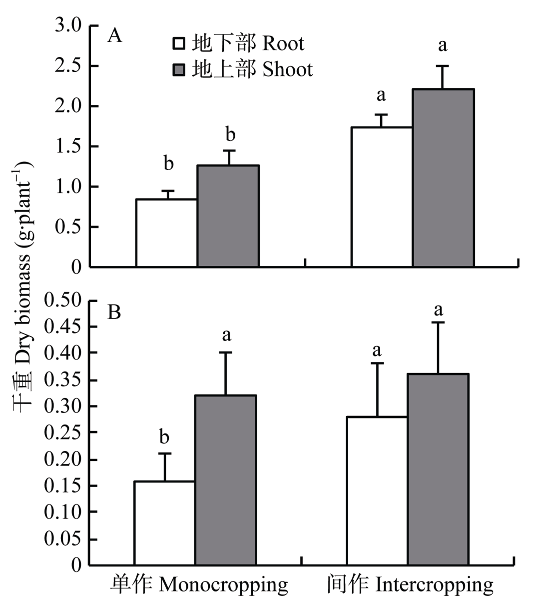


图 1 Pb 胁迫对单作和间作玉米(A)及小花南芥(B)生物量的影响

Fig. 1 Effect of Pb stress on biomass of intercropped and monocropped maize (A) and *Arbais alpine* (B)

同种植物不同字母表示单作与间作处理差异显著($P<0.05$)，下同。Different lowercase letter mean significant difference between monocropping and intercropping for the same plant ($P < 0.05$). The same below.

通过根冠比分析可知，玉米间作条件下生物量为0.79 $g\cdot株^{-1}$，而单作为0.66 $g\cdot株^{-1}$，增加20%；小花南芥根冠比为0.78，单作为0.50，增加56%。间作显著影响小花南芥根部的生物量。

2.3 Pb 胁迫下间作对小花南芥与玉米植物根系分泌有机酸的影响

玉米单作根系分泌物为 5 种：草酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸和乙酸，间作分泌物除了单作的 5 种，增加了乳酸；玉米单作与间作分泌物的草酸、柠檬酸、苹果酸和乙酸含量差异显著($P<0.05$)，分别增加 167%、103%、127%和 1 700%；乳酸玉米单作时未检出，间作下检出且分泌量为 0.06 $mg\cdot株^{-1}$，酒石酸玉米单作和间作都检出，但差异不显著(表 2)。

小花南芥单作与间作根系分泌物种类和数量差异显著($P<0.05$)，小花南芥单作分泌物种类有 3 种：草酸、柠檬酸和苹果酸，间作分泌物种类增加到 5 种，除了单作的 3 种，还有乙酸和乳酸。小花南芥单作与间作分泌物的草酸、柠檬酸和苹果酸含量差异显著($P<0.05$)，分别增加 1 558%、264%和 367%，乙酸和乳酸小花南芥单作时未检出，间作下检出且分泌量分别为 0.03 $mg\cdot株^{-1}$和 0.09 $mg\cdot株^{-1}$，酒石酸小花南芥单作和间作都未检出。

2.4 Pb 胁迫下间作对小花南芥与玉米植物铅含量的影响

Pb 胁迫下单作与间作处理模式对于植株地上部和地下部累积 Pb 含量差异显著($P<0.05$)，间作玉米地下部分 Pb 累积量为 144.81 $mg\cdot kg^{-1}$，单作为 256.73 $mg\cdot kg^{-1}$，间作体系玉米地下部 Pb 累积量与单作相比下降了 44%，玉米单作与间作地上部 Pb 累

表 2　**Pb** 胁迫对单作和间作小花南芥及玉米植物根系分泌有机酸量的影响
Table 2　Effect of Pb stress on low weight molecular organic acids contents secreted by intercropped and monocropped *Arbais Alpine* and maize　mg·plant^{-1}

植物 Plant	栽培模式 Planting pattern	草酸 Oxalic acid	柠檬酸 Citric acid	酒石酸 Tartaric acid	苹果酸 Malic acid	乙酸 Acetaldehyde acid	乳酸 Lactic acid
玉米 *Zea mays*	单作 Monocropping	1.21±0.48b	3.50±1.10b	0.09±0.04a	0.78±0.22b	0.02±0.005b	—
	间作 Intercropping	3.23±0.86a	7.09±0.63a	0.31±0.24a	1.77±0.47a	0.36±0.130a	0.06±0.02
小花南芥 *Arbis alpina*	单作 Monocropping	0.12±0.04b	0.91±0.06b	—	0.06±0.02b	—	—
	间作 Intercropping	1.99±0.11a	3.31±0.85a	—	0.28±0.07a	0.03±0.007	0.09±0.01

"—"表示未检出该物质。"—" means no detection.

积量差异不显著，分别为 79.55 mg·kg^{-1}和 68.93 mg·kg^{-1}。玉米单作与间作转运系数分别为 0.41 和 0.32，差异不显著(图 2A)。

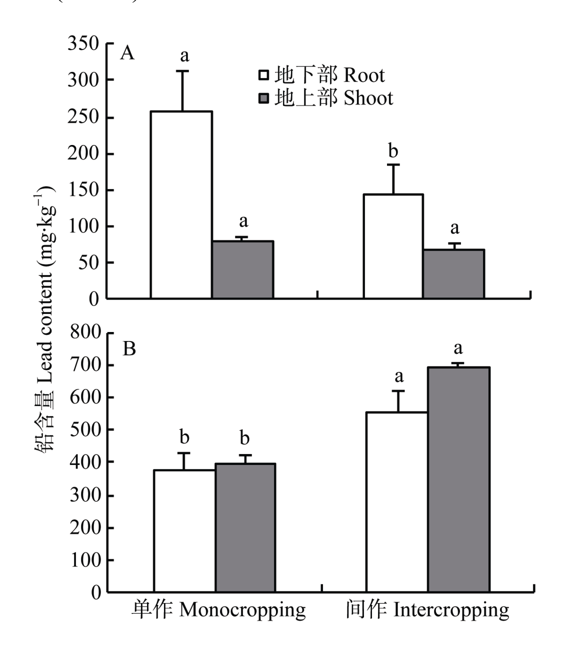


图 2　**Pb** 胁迫对单作和间作玉米**(A)**及小花南芥**(B)** **Pb** 含量的影响
Fig. 2　Effects of Pb stress on Pb contents of intercropped and monocropped maize (A) and *Arbais alpine* (B)

间作体系下小花南芥与单作相比较地下部和地上部 Pb 的累积量、转运系数差异显著(P<0.05)，单作小花南芥地下部、地上部 Pb 累积量分别为 373.61 mg·kg^{-1} 和 394.62 mg·kg^{-1}，间作分别为 555.31 mg·kg^{-1}和 690.22 mg·kg^{-1}，增加了 49%和 75%；转运系数分别为 1.05 和 1.28，增加了 22%(图 2B)。

从数据分析知，玉米与小花南芥间作体系显著降低了玉米地下部对 Pb 的累积，增加了小花南芥地下部和地上部对 Pb 的累积，同时提高了小花南芥的转运系数。

2.5　玉米与小花南芥间作根系分泌有机酸与植株累积 Pb 含量的相关分析

表 3 结果表明，植物根系分泌的有机酸与植株体内累积 Pb 含量存在一定的相关性。单作玉米地下部 Pb 含量与根系分泌苹果酸显著相关，间作玉米地下 Pb 含量与根系分泌草酸、柠檬酸、苹果酸和酒石酸显著相关，地上部与草酸、酒石酸显著相关；单作小花南芥地上部 Pb 累积量与草酸显著相关，间作小花南芥地下部和地上部 Pb 累积量与分泌的 4 种有机酸显著相关。由此可知，间作体系下根系分泌有机酸的种类和数量可能促进超累积植物小花南芥对 Pb 的累积转运。

表 3　单作和间作小花南芥、玉米根系分泌有机酸与地上和地下部 **Pb** 含量的相关分析
Table 3　Correlation analysis between organic acids contents and Pb content of intercropped and monocropped *Arbais alpina* and maize

植物 Plant	栽培模式 Planting pattern	部位 Part	有机酸 Organic acid					
			草酸 Oxalic acid	柠檬酸 Citric acid	苹果酸 Malic acid	酒石酸 Tartaric acid	乙酸 Acetaldehyde acid	乳酸 Lactic acid
玉米 *Zea mays*	单作 Monocropping	地下 Root	0.599	0.034	0.971*	0.033	0.095	—
		地上 Shoot	0.768	0.008	0.879	0.666	0.629	—
	间作 Intercropping	地下 Root	0.984*	0.976*	0.965*	0.984*	0.276	0.854
		地上 Shoot	0.944*	0.772	0.726	0.901*	0.892	0.043
小花南芥 *Arbis alpina*	单作 Monocropping	地下 Root	0.808	0.042	0.269	—	—	—
		地上 Shoot	0.948*	0.046	0.589	—	—	—
	间作 Intercropping	地下 Root	0.996*	0.952*	0.904*	—	0.937*	0.309
		地上 Shoot	0.994*	0.988*	0.950*	—	0.852	0.916*

表示在 0.05 水平上显著相关性。 indicates significant different among treatments (P < 0.05).

3 讨论

3.1 间作对作物根系形态及 Pb 吸收的影响

根系是植物吸收水分和养分参与体内物质合成和转化过程的重要器官，植物根系生长过程中感应到不同的外界环境时，根系可能改变吸收运输离子的数量和浓度[16−17]。前人研究发现间作体系黑麦草(*Lolium perenne* L.)和紫云英(*Astragalus siniucus* L.)与芥菜型油菜(*Brassica juncea* L.)和甘蓝型油菜(*B. napus* L.)间作时，芥菜型油菜和甘蓝型油菜的地上部和根部的 Cd 和 Pb 的含量显著降低；黑麦草和紫云英根部的镉和 Pb 含量显著增加[18]。玉米–豌豆(*Pisum sativum* L.)间作模式下，相同 Cu 浓度处理使玉米地上部 Cu 含量均显著低于单作模式，而玉米地下部 Cu 含量均显著高于单作模式，间作玉米富集系数均低于单作玉米，且所有间作模式的玉米转运系数均显著低于单作玉米。间作处理降低了 Cu 元素从玉米地下部向地上部的转运[19]。本研究玉米与小花南芥间作体系下，间作玉米地下部 Pb 含量与单作相比显著降低，间作小花南芥地下部和地上部 Pb 含量显著增加。间作体系改变金属在植物体内的累积部位，推测是否根系构型改变从而改变吸收运输方式。如低 P 胁迫下，黑麦草主根和侧根变短变密，根毛增长增多[20]；Al 胁迫下，低浓度 Al(10 μmol·L^{-1})促进大豆(*Glycine max* L.)根长生长，而对水稻无影响，高浓度铝(50 μmol·L^{-1})抑制大豆和水稻根系生长[21]。本研究间作体系下，间作玉米与单作相比分根条数、根系表面积、根密度差异显著，间作小花南芥根系形态参数与单作相比都显著增加。玉米和小花南芥地下部生物量显著增加约 2 倍。研究发现根系形态参数是植物体内重金属含量改变的表面现象，对于根系形态改变是否是改变植物对金属吸收运输方式的机理还有待从分子角度进一步深入探讨。

3.2 间作对作物根系分泌低分子有机酸的影响

间作体系作物根系形态结构发生变化，可能因植物根际微生态环境中，土壤–植物–微生物系统的协同作用，植物根系分泌各种物质影响土壤中矿质营养元素、污染物质等的形态转化[22]，反过来根系分泌物低分子有机酸作用于根系形态发生改变。左元梅等[23]研究发现，两种作物之间根系接触并不是关键因素，关键是间作作物通过向土壤中释放根系分泌物而相互影响，玉米/花生(*Arachis hypogaea* L.)间作系统中无论是玉米根系与花生根系直接接触还是两者根系用尼龙网隔开，玉米的根系分泌物都能进入到花生根际，影响到花生Fe营养的作用。间作作物间是通过根系分泌物质来相互影响根系的营养状况，然后传递到地上部，调节作物内部的生理代谢，进而促进或抑制植株的生长。外源添加不同有机酸处理发现，乙酸处理减少根系活跃吸收面积，柠檬酸能明显提高根系活力，抑制根系吸收Pb，并在茎叶中转变为低活性的形态，有机酸的加入都可以缓解植物对Pb胁迫的响应[24−26]。不同种植模式下，大豆根系分泌物对玉米生长及产量产生显著影响，甘薯则抑制玉米生长和降低产量[27]；小麦与玉米间作提高了两者的根系数量和生物量，同时根系分泌有机酸的种类明显增加[28]；花生根系分泌物对水稻、玉米和黑麦草等作物生长有明显的促进作用[29]。本试验中间作体系下玉米和小花南芥根系分泌有机酸的量显著增加，种类也增多，玉米增加了乳酸，小花南芥增加了苹果酸、乙酸和乳酸。从间作体系下小花南芥地下部生物量、玉米地下部和地上部生物量增加看，推断作物根系分泌低分子有机酸可能促进了植物生长。

3.3 低分子有机酸与 Pb 在作物体内的关系

小花南芥是超累积 Pb 的植物，400 mg·L^{-1} Pb^{2+}浓度胁迫下玉米的生长受到抑制。试验过程中，两种植物均并未出现毒害症状。已有研究发现外源添加柠檬酸可形成稳定的柠檬酸–Pb 环状结构络合物[30]，Al 处理增加大豆根系柠檬酸分泌量[21]。推测本试验中间作溶液中检出柠檬酸量增加 103%，可能柠檬酸与 Pb 形成络合物，减缓 Pb 对玉米生长的胁迫。也有研究显示，柠檬酸促进土壤中可交换态 Pb 的含量[31]，可交换态 Pb 浓度增加有利于植物吸收，本试验超累积 Pb 的植物小花南芥与作物玉米间作条件下，玉米正常生长，小花南芥累积 Pb 量增加，这可能与两种作物离子吸收运输的通道有关。Sasaki 等[32]克隆出耐铝基因 *ALMTI*，该基因能编码苹果酸转运子，从而提高对 Al 的抗性；可在酵母(*Saccharomyces* spp.)、水稻和烟草(*Nicotiana tabacum* L.)中表达，使其分泌大量的苹果酸；Al 胁迫增加大豆根系柠檬酸含量和根系柠檬酸分泌量，并不增加水稻根系柠檬酸含量，而增加根系分泌量[21]。Kitagawa 等报道[33]，不同小麦品种的抗 Al 性与根系苹果酸的分泌呈正相关；Pb 胁迫下，柠檬酸对植株的解毒作用主要是抑制根系吸收，促进 Pb 向茎叶转移，并在茎叶中转变为低活性的形态，酒石酸不改变叶/根比，解毒效应相对较弱[24]，不同植物、不同有机酸和不同重金属胁迫对植物产生的影响不同，这说明有机酸分泌可能是与阴离子通道有关系。

4　结论

Pb 胁迫下，与单作相比，间作玉米和小花南芥两种植物的根系形态发生显著改变，根生物量显著增加。Pb 胁迫下间作植物根系分泌有机酸的种类和数量都显著改变，间作玉米根系分泌物检测到乳酸，间作小花南芥检测到苹果酸、乙酸和乳酸，与单作相比，间作小花南芥分泌的乙酸与小花南芥地下部 Pb 含量存在相关性，乳酸与地上部 Pb 含量存在相关性。玉米与小花南芥间作显著减少玉米地下部的 Pb 含量，增加了小花南芥地下部和地上部的 Pb 含量，同时提高了小花南芥的转运系数；

总之，间作改变了植物根系分泌有机酸的种类和数量，改变了超累积植物小花南芥和玉米体内 Pb 的含量，促进超累积植物小花南芥累积 Pb，减少农作物玉米植株体内 Pb 含量。Pb 胁迫下超累积植物小花南芥与玉米间作是一种可行的修复模式。

参考文献　References

[1] 马献发，宋凤斌，张继舟．根系对土壤环境胁迫响应的研究进展[J]．中国农学通报，2011, 27(5): 44–48
Ma X F, Song F B, Zhang J Z. Advances of research of roots responses to environmental stress on soil[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(5): 44–48

[2] 万惠燕，刘嘉杰，王金祥，等．磷空间有效性对拟南芥根形态构型的影响[J]．植物生理学通讯，2007, 43(3): 425–429
Wan H Y, Liu J J, Wang J X, et al. Effects of phosphorus spatial availability on root morphology and architecture in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh[J]. Plant Physiology Communications, 2007, 43(3): 425–429

[3] 张玲，王焕校．镉胁迫下小麦根系分泌物的变化[J]．生态学报，2002, 22(4): 496–502
Zhang L, Wang H X. Changes of root exudates to cadmium stress in wheat (*Triticum aestivm*. L.)[J]. Acta Ecologica Sinica, 2002, 22(4): 496–502

[4] Jiang G J, Liu Y H, Huang L, et al. Mechanism of lead immobilization by oxalic acid-activated phosphate rocks[J]. Journal of Environmental Sciences, 2012, 24(5): 919–925

[5] 乔冬梅，庞鸿宾，齐学斌，等．黑麦草分泌有机酸的生物特性对铅污染修复的影响[J]．农业工程学报，2011，27(12): 195–199
Qiao D M, Pang H B, Qi X B, et al. Effect of biological nature of organic acid exudation from ryegrass on phytoremediation of lead pollution[J]. Transactions of the CSAE, 2011, 27(12): 195–199

[6] 唐新莲，黎晓峰，凌桂芝，等．Ca^{2+}信号参与铝诱导黑麦根系分泌有机酸的调控[J]．中国农业科学，2008，41(8): 2279–2285
Tang X L, Li X F, Ling G Z, et al. The involvement of Ca^{2+} signal in the regulation of Al-induced secretion of organic acids in rye[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(8): 2279–2285

[7] 卢豪良，严重玲．秋茄[*Kandelia candel* (L.) Druce]根系分泌低分子量有机酸及其对重金属生物有效性的影响[J]．生态学报，2007, 27(10): 4173–4181
Lu H L, Yan C L. Exudation of low-molecular-weight-organic acids by *Kandelia candel* (L.) Druce roots and implication on heavy meta1 bioavailability in mangrove sediments[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(10): 4173–4181

[8] Osawa H, Matsumoto H. Possible involvement of protein phosphorylation in aluminum-responsive malate efflux from wheat root apex[J]. Plant Physiology, 2001, 126(1): 411–420

[9] 范洪黎，王旭，周卫．不同镉积累型苋菜(*Amaranthus mangostanus* L.)根际低分子量有机酸与镉吸收的关系[J]．中国农业科学，2007, 40(12): 2727–2733
Fan H L, Wang X, Zhou W. Low molecular weight organic acids in rhizosphere and their effects on cadmium accumulation in two cultivars of amaranth (*Amaranthus mangostanus* L.)[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(12): 2727–2733

[10] 施积炎，陈英旭，田光明，等．海州香薷和鸭跖草铜吸收机理[J]．植物营养与肥料学报，2004, 10(6): 642–646
Shi J Y, Chen Y X, Tian G M, et al. Copper uptake mechanism of *Elsholtzia splendens* and *Commelina communis*[J]. Plant Nutrition and Fertilizing Science, 2004, 10(6): 642–646

[11] 王艳红，龙新宪，吴启堂．两种生态型东南景天根系分泌物的差异性[J]．生态环境，2008, 17(2): 751–757
Wang Y H, Long X X, Wu Q T. Differences of root exudates between two ecotypes of *Sedum alfredii* Hance[J]. Ecology and Environment, 2008, 17(2): 751–757

[12] 肖靖秀，郑毅，汤利．小麦–蚕豆间作对根系分泌低分子量有机酸的影响[J]．应用生态学报，2014, 25(6): 1739–1744
Xiao J X, Zheng Y, Tang L. Effect of wheat and faba bean intercropping on root exudation of low molecular weight organic acids[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014, 25(6): 1739–1744

[13] 何彩甄，王建煌，裴婕，等．少花龙葵与芦荟间种对镉胁迫的效应[J]．安徽农业科学，2015, 43(10): 96–100
He C Z, Wang J H, Pei J, et al. Cadmium stress effects on *Solanum photeinocarpum* intercropping with *Aloe vera*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2015, 43(10): 96–100

[14] 李祖然，闵强，孙晶晶，等．As 胁迫对二年生三七生长、根部 As 含量和根系分泌物的影响[J]．北京农学院学报，2015, 30(3): 86–91
Li Z R, Min Q, Sun J J, et al. Effect of As stress on the growth, the root As contents and root exudates in 2-year-old *Panax notoginseng*[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2015, 30(3): 86–91

[15] Zu Y Q, Li Y, Chrlstian S, et al. Accumulation of Pb, Cd, Cu and Zn in plants and hyperaccumulator choice in Lanping lead-zinc mine area, China[J]. Environment International, 2004, 30(4): 567–576

[16] Costa C, Dwyer L M, Hamilton R I, et al. A sampling method for measurement of large root systems with scanner-based image analysis[J]. Agronomy Journal, 2000, 92(4): 621–627

[17] 张知贵，王明贤，杨华，等．植物根系分泌物研究进展[J].

广东农业科学, 2013(2): 219–222
Zhang Z G, Wang M X, Yang H, et al. The research status of plant root exudates[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2013(2): 219–222

[18] 向言词, 官春云, 黄璜, 等. 作物间作对油菜积累镉与铅的影响[J]. 水土保持学报, 2010, 24(3): 50–55
Xiang Y C, Guan C Y, Huang H, et al. Effects of intercropping on accumulation of Cd and Pb in oilseed rape[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2010, 24(3): 50–55

[19] 徐健程, 王晓维, 聂亚平, 等. 不同铜浓度下玉米间作豌豆对土壤铜的吸收效应研究[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(8): 1508–1514
Xu J C, Wang X W, Nie Y P, et al. Effect of maize-pea intercropping on crop copper accumulation under different copper concentrations[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2015, 34(8): 1508–1514

[20] Ticconi C A, Delatorre C A, Lahner B, et al. *Arabidopsis Pdr2* reveals a phosphate-sensitive cheekpoint in root development[J]. Plant Journal, 2004, 37(6): 801–814

[21] 刘尼歌, 莫丙波, 严小龙, 等. 大豆和水稻对铝胁迫响应的生理机制[J]. 应用生态学报, 2007, 18(4): 853–858
Liu N G, Mo B B, Yan X L, et al. Physiological mechanisms of soybean and rice in responses to aluminum stress[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2007, 18(4): 853–858

[22] 姜存仓, 廖宏, 陈防, 等. 作物不同基因型对土壤环境中某些因素影响的研究进展[J]. 中国土壤与肥料, 2009(3): 5–9
Jiang C C, Liao H, Chen F, et al. Progress on the difference of certain soil chemical characters for varied genotype plants[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2009(3): 5–9

[23] 左元梅, 陈清, 张福锁. 利用 ^{14}C 示踪研究玉米/花生间作玉米根系分泌物对花生铁营养影响的机制[J]. 核农学报, 2004, 18(1): 43–46
Zuo Y M, Chen Q, Zhang F S. The mechanisms of root exudates of maize in improvement of iron nutrition of peanutin peanut maize intercropping system by ^{14}C tracer technique[J]. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica, 2004, 18(1): 43–46

[24] 胡红敏, 边才苗, 王锦文, 等. 有机酸对铅和锌危害的解毒机制研究[J]. 北方园艺, 2010(2): 21–24
Hu H M, Bian C M, Wang J W, et al. Detoxication mechanism of organic acid to raddish under the stress of Pb and Zn[J]. Northern Horticulture, 2010(2): 21–24

[25] 李雪梅, 张利红, 陶思源, 等. 不同有机酸对铅胁迫小麦幼苗的缓解作用[J]. 生态学杂志, 2005, 24(7): 833–836
Li X M, Zhang L H, Tao S Y, et al. Relieving effects of different organic acids on wheat seedling under lead stress[J]. Chinese Journal of Ecology, 2005, 24(7): 833–836

[26] 陈英旭, 林琦, 陆芳, 等. 有机酸对铅、镉植株危害的解毒作用研究[J]. 环境科学学报, 2000, 20(4): 467–472
Chen Y X, Lin Q, Lu F, et al. Study on detoxication of organic acid to raddish under the stress of Pb and Cd[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2000, 20(4): 467–472

[27] 刘小明, 雍太文, 廖敦平, 等. 不同种植模式下根系分泌物对玉米生长及产量的影响[J]. 作物杂志, 2012(2): 84–88
Liu X M, Yong T W, Liao D P, et al. The effect of root exudates under different planting patterns on growth and yield of maize[J]. Crops, 2012(2): 84–88

[28] 郝艳茹, 劳秀荣, 孙伟红, 等. 小麦/玉米间作作物根系与根际微环境的交互作用[J]. 农村生态环境, 2003, 19(4): 18–22
Hao Y R, Lao X R, Sun W H, et al. Interaction of roots and rhizosphere in the wheat-maize intercropping system[J]. Rural Eco-Environment, 2003, 19(4): 18–22

[29] 胡飞, 孔垂华. 花生对作物的化感作用[J]. 华南农业大学学报, 2002, 23(1): 9–12
Hu F, Kong C B. Allelopathic potentials of *Arachis hypogaea* on crops[J]. Journal of South China Agricultural University, 2002, 23(1): 9–12

[30] 左继超, 苏小娟, 胡红青, 等. 磷–铅–柠檬酸在红壤胶体上相互作用机理初探[J]. 土壤学报, 2014, 51(1): 126–132
Zuo J C, Su X J, Hu H Q, et al. Preliminary research on mechanism of phosphorus, lead and citric acid interaction in red soil colloid[J]. Acta Pedologica Sinica, 2014, 51(1): 126–132

[31] 钱翌, 刘莹, 彭晓丽. 低分子有机酸对土壤中 Pb 形态的影响[J]. 水土保持学报, 2011, 25(4): 261–264
Qian Y, Liu Y, Peng X L. Effects of low molecular weight organic acids on speciation of Pb in soil[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2011, 25(4): 261–264

[32] Sasaki T, Yamamoto Y, Ezaki B, et al. A wheat gene encoding an aluminum activated malate transporter[J]. Plant Journal, 2004, 37(5): 645–653

[33] Kitagawa T, Morishita T, Tachibana Y, et al. Differential aluminum resistance of wheat varieties and secretion of organic acids[J]. Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 1986, 57(4): 352–358